

2. Белоусова Н.И., Хан В.А., Ткачев А.В. Химический состав эфирного масла багульников// Химия растительного сырья. – 1999. - №3. – С. 5-38.
3. Влияние освещенности на содержание и состав эфирного масла в побегах багульника болотного / Н.А. Кузьмичева, О.В. Созинов, Н.А. Алексеев, Е.С. Егорова// Вестник фармации. – 2003. - №4. – С. 10-13.
4. Количественное определение фенольных соединений в побегах багульника болотного из различных мест произрастания / М.С. Коротаева, В.Д. Белоногова, Н.С. Фурса, Ю.Г. Корниевский// Запорожский медицинский журнал. – 2004. - №3. – С.130-132.
5. Колпакова М.В. Разработка методик и исследование качества сырья и препаратов пиона уклоняющегося: Дисс. канд. фармац. наук. – М., 1994. – 172 с.
6. Лекарственное растительное сырье. Фармакогнозия: Учебное пособие/ Под ред. Г.П. Яковлева и К.Ф. Блиновой. – Санкт-Петербург: Спецлит, 2004. – 766 с.
7. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства Раеопiасеae-Thymelaeaceae / Отв. ред. П.Д. Соколов. – Л.: Наука, 1986. – С. 143-146.
8. Сравнительное изучение содержания фармакологически активных фенольных веществ в видах и разновидностях рода Багульник, произрастающих в Сибири, на Дальнем Востоке и в Беларуси / Н.С. Фурса, М.С. Коротаева, Н.А. Кузьмичева, О.В. Созинов// Вестник фармации. – 2004. - №2. – С. 28-30.
9. Хроматоспектрофотометрическое определение арбутина в листьях *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch. / П.Б. Лубсандоржиева, Б.С. Жигжитов, Т.Д. Даргаева и др.// Химико-фармацевтический журнал. – 2002. - №5. – С. 38-40.

SUMMARY

N.S.Fursa, M.S.Korotaeva, V.L.Sheluto,
N.A.Kuzmichova

CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS IN OVERGROUND AND UNDER- GROUND ORGANS OF LEDUM PALUS- TRE L., GROWING IN SEVERAL RE- GIONS OF BELARUS

Spectrophotometric method of determination of arbutin, flavonoids sum and hydroxycinnamic acids in wild rosemary was elaborated. Comparative analysis of this compounds content in different organs of wild rosemary as well as in the raw materials samples from different region of Belarus was carried out. The flowers contain maximal amounts of flavonoids and hydroxycinnamic acids, while maximal content of arbutin is determined in the leaves. Flowers of wild rosemary are proposed as the new kind of medicinal raw material. Content of phenolic compounds, in particular arbutin, in the sprouts of *Ledum palustre* from Belarus is little smaller then in other one from the northern parts of Russia.

Л.А. Любаковская, Н.С. Гурина, О.А. Захарова, М. Сикорска¹, И. Матлавска¹, М. Шауфер-Хайндрих¹, Е.В. Спиридович²

СПЕКТР ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ СИРЕНИ И КАЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЫ

¹Медицинская академия г. Познань,
Республика Польша

²Центральный ботанический сад, г. Минск
Витебский государственный
медицинский университет

В данной работе изучен спектр фенольных соединений в листьях и цветках дикорастущей сирени и культивируемых сортах «Михаил Шолохов», «Лунный свет» и каллусе листового и цветкового происхождения культивируемых сортов.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на крупные успехи в области применения синтетических лекарственных средств, препараты природного происхождения приобретают все больший вес в практической медицине. Фармакологически активные вещества растений обладают большей биологической доступностью, как правило, не проявляют побочного действия на организм. Биологически активные вещества растений родственны организму человека по своей природе. Они легче включаются в метаболические процессы и, следовательно, менее токсичны.

Растения синтезируют множество соединений, относящихся к продуктам специализированного или вторичного обмена. К ним можно отнести фенольные соединения, алкалоиды, терпеноиды и др. [2]. Как известно, фенольные соединения представляют собой группу разнообразных химических веществ: флавоноиды, фенольные кислоты, антоцианы, катехины, дубильные веществ и др., что объясняет широкий спектр их действия [1].

Являясь популярным декоративным растением, сирень обыкновенная (*Syringa vulgaris* L., Oleaceae) издавна используется в народной медицине в качестве противовоспалительного, антисептического, жаропонижающего, обезболивающего средства [3]. Установлено, что листья, цветки сирени содержат фенольные соединения: фенологликозиды, фенолокислоты, дубильные вещества, флавоноиды и др [3].

Современное производство лекарственных препаратов все чаще обращается к биотехнологиям получения биологически активных веществ, используя клеточные и каллусные культуры, что связано с рядом экологических проблем [5].

Цель работы: определение спектра фенольных соединений в листьях, цветках дикорастущей сирени (*Syringa vulgaris* L.) и сортах сирени, культивируемых в Ботаническом саду НАН Беларуси: сорт «М.Шолохов», «Лунный свет», а также каллусе листового и цветкового происхождения сорта «М.Шолохов», «Лунный свет».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ
ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом для исследования служили цветки и листья дикорастущей сирени (*Syringa vulgaris* L.) и сирени, культивируемой в Ботаническом саду НАН Беларуси, сорта «М.Шолохов», «Лунный свет», а также каллус листового и цветкового происхождения культивируемых сортов. Листья и цветки были собраны во время цветения и высушены в сушилке при температуре 30°C, при постоянном доступе воздуха. Каллус был выращен на среде Мурасиге и Скуга [4,5]. Каллус высушивали с помощью лиофильной сушки «Иней-2».

Цветки, листья и каллус экстрагировали метанолом в соотношении 1:10 на водяной бане с обратным холодильником, при температуре кипения растворителя, в течение 1 часа, 3-кратно. Каждый экстракт фильтровали, объединяли и концентрировали на ротаторном испарителе. Осадок растворяли в горячей воде и оставляли на холоду в течение 12 часов, затем фильтровали. Фильтрат обрабатывали последовательно хлороформом (фракция А), диэтиловым эфиром (фракция В), этилацетатом (фракция С), бутанолом (фракция Е), в делительной воронке, в соотношение 1:3, 3-х кратно. Эфирную и этилацетатную фракции использовали для качественного анализа свободных фенолкарбоновых кислот, этилацетатную и бутаноловую – для анализа флавоноидов. Качественный анализ фенольных соединений проводили с использованием бумажной хроматографии (БХ), тонкослойной хроматографии (ТСХ), препаративной хроматографии (ПХ) и УФ-спектрометрии.

Бумажная хроматография

На всех этапах разделения веществ, качественный состав фенольных соединений контролировали при помощи бумажной хроматографии, которую проводили на бумаге Whatman N1, используя в качестве подвижной фазы 15% уксусную кислоту. Хроматография проводилась в течение 10-12 часов. Распределение фенольных соединений на хроматограмме анализировали в УФ-254 нм до и после обработки

хроматографии растворами реагентов, характерных для фенольных соединений (1% спиртовый раствор хлорида алюминия и 0,1% β -амино этанольный эфир дифенилборной кислоты «Naturstoffreagenz A»).

Тонкослойную хроматографию проводили на целлюлозе DC (Merck), в двух направлениях используя системы растворителей: бензол : уксусная кислота : вода (6:7:3) – первое направление; уксусная кислота : вода (15:85) – второе направление. Пластинки высушивали и анализировали при УФ-254 нм, а затем обрабатывали диазотированной сульфаниловой кислотой в 20% Na_2CO_3 . Фенольные кислоты идентифицировали по значению R_f и окраске пятен на хроматограмме.

Колоночная хроматография

Этилацетатную фракцию (ориентировочно, содержащую флавоноиды и связанные фенольные кислоты) наносили на колонку с силикагелем (MN – Kieselgel 100-200 mesh ASTM), 20 x 500 мм. Элюирование проводили поэтапно: сначала хлороформом для удаления хлорофилла; затем этилацетатом. Фракции собирали по 10 мл, концентрировали, растворяли в метаноле и использовали для хроматографического исследования.

Препаративную хроматографию проводили на бумаге Whatman N3. Фракции, полученные после колоночной хроматографии, наносили на бумагу. В качестве подвижной фазы использовали 15% уксусную кислоту. Распределение флавоноидов на хроматограмме анализировали в УФ-254 нм. Полученные пятна вырезали и экстрагировали метанолом. Затем концентрировали и анализировали при помощи УФ спектрометрии.

УФ-спектрометрию проводили на регистрирующем УФ-спектрометре (Perkin Elmer, Lambda 35) при длине волны 200-500 нм в присутствии MeOH, NaOMe, AlCl_3 , HCl, H_3BO_4 сравнивая полученные спектры, со спектрами стандартных веществ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Используя данные БХ, ТСХ и УФ-спектрометрии, было установлено, что фе-

нольные соединения в изучаемых объектах представлены, в основном, фенолкарбоновыми кислотами и флавоноидами. Спектр фенольных соединений в листьях и цветках дикорастущей сирени (*Syringa vulgaris* L.) и сирени, культивируемой в Ботаническом саду НАН Беларуси, сорта «М.Шолохов», «Лунный свет», а также каллусе листового и цветкового происхождения сорта культивируемых сортов, представлен в таблице. Спектр фенольных соединений дикорастущей сирени отличается от культивируемых сортов наличием в цветках только рутина, тогда как цветки сорта «М.Шолохов», «Лунный свет» содержат кроме рутина, изокверцитрин, кемферол -3-рамноглокозид. Каллус цветкового происхождения сорта «М.Шолохов» содержит только астрагалин, а сорта «Лунный свет» изокверцитрин и рутин. Листья дикорастущей сирени содержат рутин, изокверцитрин, кемферол-3-рамноглокозид, а также неидентифицированные флавоноиды X,Y,Z. Листья культивируемых сортов «М.Шолохов», «Лунный свет» содержат сходный спектр идентифицированных флавоноидов и только сорт «Лунный свет» – содержит неидентифицированные флавоноиды Y (X,Z – отсутствуют), а флавоноиды X,Y,Z отсутствуют в листьях сорта «М.Шолохов». Каллус листового происхождения сорта «М.Шолохов» содержит только астрагалин, а сорта «Лунный свет» – изокверцитрин и рутин.

Спектр фенольных кислот в изучаемых объектах также различается: паракумаровая кислота (цис-и транс-изомеры), пара-гидроксibenзойная, гидроксикофейная кислота присутствуют в дикорастущей и во всех сортах культивируемой сирени, но отсутствуют в каллусной культуре. Феруловая кислота (цис- и транс-изомеры) присутствуют только в цветках дикорастущей сирени и сирени сорта «М.Шолохов». Пара-гидроксифенуксусная кислота присутствует как в интактном растении, так и каллусной культуре. Ванилиновая кислота присутствует только в листьях и цветках дикорастущей сирени и листьях сорта «М.Шолохов»; кофейная кислота присутствует в листьях дикорастущей си-

рени и сорте «М.Шолохов». Не идентифицированная кислота с R_{f1} -0,06; R_{f2} -0,78 отсутствует в листьях дикорастущей сирени и сирени сорта «М.Шолохов»; с R_{f1} -1; R_{f2} -0,87 - отсутствует в сорте «М.Шолохов» и каллусной культуре; с R_{f1} -0,2; R_{f2} -0,29 присутствует только в цветках дикорастущей сирени, а с R_{f1} -0,51; R_{f2} -0,86 и R_{f1} -0,27; R_{f2} -0,86 – присутствует только в листьях дикорастущей сирени. Анализ полученных данных показал, что спектр фенольных соединений дикорастущей и культивируемых сортов сирени отличается и, следовательно, этот признак может использоваться в дифференцировке сортов. Спектр фенольных соединений каллусной культуры отличается от спектра интактного растения, что может быть связано со степенью дифференцировки ткани.

ЛИТЕРАТУРА

1. Запрометов М.Н. Фенольные соединения. М.: Наука, 1993, 184 с.
2. Лукнер М. Вторичный метаболизм у микроорганизмов, растений и животных. М.: Мир, 1979. 194 с.
3. Энциклопедический словарь лекарственных растений и продуктов животного происхождения под редакцией Г.П. Яковлева и К.Ф. Блиновой. Санкт-

Петербург: Специальная литература, 1999.255 с.

4. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid grows and bioassays with tobacco tissue cultures// *Physiol. Plant.* 1962. -V.15. -P.473-497.
5. Popowich E.A., Filipeniy V.L. Features of micropropagation of *Syringa vulgaris* L.// *Scientific works of the Lithuanian Institute of horticulture and Lithuanian University of agriculture. Horticulture and vegetable growing. Horticulture.* 2000.-V.19 (3). -P. 434-440

SUMMARY

L.A. Lyubakovskaya, N.S. Gurina, O.A. Zakharova, M. Sikorska, I. Matlawska, Schauer-Heindrich M, E.V. Spiridovich

PHENOLIC COMPOUNDS SPECTRUM OF DIFFERENT KINDS OF SYRINGA AND CALLUS CULTURE

The aim of this work is the study of phenolic compounds of the leaves and flowers of *Syringa* «Michael Sholochov» «Lunny Svet» and in leaves and flowers callus from cultivated kinds of *Syringa vulgaris*.

Таблица 1

Спектр фенольных соединений

Вещество	сирень обыкновенная (дикорастущая)		сирень сорт «М.Шолохов»		сирень сорт «Лунный свет»		Каллус сорт «М.Шолохов»		Каллус сорт «Лунный свет»
	цветки	листья	цветки	листья	цветки	листья	Цветкового происхождения	Листового происхождения	Листового происхождения
изокверцетрин (glu-KW)	-	+	+	+	+	+	-	-	+
рутин (rut-kw)	+	+	+	+	+	+	-	-	+
астрагалин (glu-KE)	-	-	-	-	-	+	+	+	-
кемферол-3 рамноглокозид (rut-KE)	-	+	+	+	+	+	-	-	-
флавоноид Y	-	+	-	-	-	+	-	-	-
флавоноид X	-	+	-	-	-	-	-	-	-
флавоноид Z	-	+	-	-	-	-	-	-	-
пара-кумаровая кислота (цис-и транс-изомеры)	+	+	+	+	+	+	-	-	-
феруловая кислота (цис-и транс-изомеры)	+	-	+	-	-	-	-	-	-
пара-гидроксibenзойная кислота	+	+	+	+	+	+	-	-	-
пара-гидроксифенилуксусная кислота	+	+	+	+	+	+	+	+	+
не идентифицировано (Rf ₁ -0,06; Rf ₂ -0,78)	+	-	+	-	+	+	+	+	-
не идентифицировано (Rf ₁ -1; Rf ₂ -0,87)	+	+	-	-	+	+	-	-	-
гидроксикфейная кислота	+	+	+	+	+	+	-	-	-
не идентифицировано (Rf ₁ -0,2; Rf ₂ -0,29)	+	-	-	-	-	-	-	-	-
не идентифицировано (Rf ₁ -0,51; Rf ₁ -0,86)	-	+	-	-	-	-	-	-	-
не идентифицировано (Rf ₁ -0,27; Rf ₁ -0,86)	-	+	-	-	-	-	-	-	-
ванилиновая кислота	+	+	+	-	+	-	-	-	-
кофейная кислота	+	-	+	-	-	-	-	-	-